Aus der Kinderklinik der Freien Universität Berlin
Kaiserin-Auguste-Viktoria-Haus
Direktor: Professor Dr. med. H. Helge

Beeinflussen Beta-Lactam-Antibiotika die Bilirubin-Albumin-Bindung bei jungen Gunn-Ratten?

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Heß, Wolfgang Friedrich

Neuwied am Rhein

1978

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549227_0008

Aus der Kinderklinik der Freien Universität Berlin
Kaiserin-Auguste-Viktoria-Haus
Direktor: Professor Dr. med. H. Helge

Beeinflussen Beta-Lactam-Antibiotika die Bilirubin-Albumin-Bindung bei jungen Gunn-Ratten?

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Heß, Wolfgang Friedrich

Neuwied am Rhein

1978

Referent: Prof. Dr. med. L. Ballowitz

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. H. Lode

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 25.7.1978

I N H A L T

		Seite
I.	EINLEITUNG	5
	A. Fragestellung	5
	B. Tiermodell	6
II.	METHODE	8
	A. Versuchspräparate	8
	a) Einzelpräparate	8
	b) Zweier-Kombinationen	8
	c) Dreier-Kombinationen	9
	B. Versuchstiere	10
	a) Heterozygote Gunn-Ratten	10
	b) Homozygote Gunn-Ratten	11
III.	ERGEBNISSE	14
	A. Heterozygote Gunn-Ratten	14
	B. Homozygote Gunn-Ratten	16
	a) Gewichtszunahme und 4-Tage-Überlebensrate	16
	b) Serumbilirubin-Bestimmung	19
	c) Histochemische Untersuchung am Kleinhirn	30
IV.	DISKUSSION	34
	A. Fragestellung	34
	B. Tiermodell	34
	C. Literaturvergleich	35
	D. Beurteilung der Ergebnisse	36
V.	ZUSAMMENFASSUNG	43
VI.	LITERATURANGABEN	46

I. EINLEITUNG

A. Fragestellung

Seit den Arbeiten von SILVERMAN und Mitarbeitern (22) aus den Jahren 1954/55 über das Sulfisoxazol (Gantrisin) erscheint es notwendig, die für Neugeborene bestimmten Medikamente bezüglich ihrer Bilirubin-Albumin-Bindungskonkurrenz zu überprüfen (9, 15, 16, 18, 19, 24, 32, 35). Es war zu beobachten, daß es bei Frühgeborenen, die mit Sulfonamiden behandelt worden waren, zu einer deutlich höheren Letalität kam, als bei Kindern, die andere Antibiotika erhalten hatten. Die Ursache dieser hohen Mortalität war darin zu suchen, daß dieses Medikament (Gantrisin), an Plasmaalbumin gebunden, stark mit dem Bilirubin um die Proteinbindung konkurriert und bei bestehender Hyperbilirubinämie zu vermehrtem Auftreten von freiem Bilirubin führt. Dieses ist nicht wasserlöslich, hat eine Affinität zu lipophilen Geweben und Ganglienzellen und bewirkt eine Bilirubinencephalopathie, den sogenannten Kernikterus.

Seit 1969 wird an der Kinderklinik der Freien Universität Berlin im Arbeitskreis um BALLOWITZ und HANEFELD die Bilirubinverdrängung durch Medikamente an ikterischen Gunn-Ratten untersucht (1, 2, 3, 4, 6, 23, 33). Unter anderem sind neben Sulfonamiden Antibiotika getestet worden. Kam es bei den Tieren nach Injektion der Arzneimittel zu einem Abfall der Serumbilirubinkonzentration, so entstand der Verdacht einer Bilirubin-Albumin-Bindungskonkurrenz. Eine lang anhaltende und 50 % des Ausgangswertes unterschreitende Senkung des Serumbilirubinspiegels wurde dabei außer nach Sulfonamiden nach Injektion einer für Säuglinge bestimmten Gentamycin-Zubereitung beobachtet (4).

Es konnte geklärt werden, daß dieser Effekt in letzterem Fall nicht von dem Wirkstoff, sondern von den Ampullen beigegebenen Hilfsstoffen (vor allem Benzylalkohol) hervorgerufen wurde. Parallel zum Abfall des Serumbilirubins ließ sich an den Purkinje-Zellen des Kleinhirns eine verstärkte Bilirubinencephalopathie nachweisen.

Zu einer deutlichen, aber weniger intensiven Bilirubinverdrängung kam es nach hohen Dosen von Beta-Lactam-Antibiotika (3). Diese gehören zu den wichtigsten Chemotherapeutika bei der Behandlung von Neugeborenen-Infektionen (17). In der vorliegenden Arbeit wurden sie deshalb noch einmal ausführlich an der Gunn-Ratte getestet. Dabei wurde besonders der Frage nachgegangen, ob die in der Klinik häufig verordneten Kombinationspräparate eine Summationswirkung in der Bilirubinverdrängung erkennen ließen (19).

B. Tiermodell

Auch wenn tierexperimentelle Aussagen nur mit Einschränkungen auf den Menschen übertragbar sind (3, 10, 20, 35), hat sich gerade hinsichtlich der Neugeborenen-Hyperbilirubinämie die Gunn-Ratte als wertvolles Tiermodell erwiesen (4, 6, 10, 15, 20, 21, 35). Gunn-Ratten waren es, an denen JOHNSON und Mitarbeiter 1959 die klinischen Beobachtungen SILVERMANs über das gehäufte Auftreten von Kernikterus-Fällen nach Sulfanamid-Therapie (Gantrisin) reproduzieren konnten (10, 11).

Die Gunn-Ratte, eine Mutante der Wistar-Ratte, ist durch einen rezessiv vererblichen Glucuronyltransferase-Mangel gekennzeichnet. In der Leber homozygoter Tiere kann Bilirubin nicht an Glucuronsäure gekoppelt und folglich auch nicht mit der Galle ausgeschieden werden. Es kommt dadurch zu einer lebenslangen Hyperbilirubinämie. Schon in den ersten Stunden nach der Geburt steigt das Serumbilirubin an und erreicht nach 14 Tagen mit etwa 11 mg/dl seinen Höchstwert (10). Nach den Befunden von JOHNSON und Mitarbeitern (11) entwickelt sich bei ungefähr 70 % der homozygoten Tiere innerhalb der ersten 3 Lebenswochen ein Kernikterus, den die Hälfte der Ratten nicht überleben. Klinisch läßt sich ein Kernikterus erst nach 10 Tagen, wenn das Jungtier laufen kann, an ataktischen, unkoordinierten Bewegungen, Hypotonie und ungerichteter Hyperaktivität erkennen. Das Saugvermögen, damit die Gewichtszunahme, ist beeinträchtigt. Athetoide Bewegungen, Opisthotonus und klonische Zuckungen

gehen gewöhnlich dem Saugverlust und damit dem Tod voraus. Die Hirnsektionen lassen gelbpigmentierte Colliculi inferiores, Stammganglien, Thalamuskerne und Kleinhirnbezirke erkennen. Mikroskopisch zeigen sich Schädigungen der Ganglienzellen bis hin zu Pyknosen (10). Histochemische Untersuchungen an den Purkinje-Zellen des Kleinhirns (HANEFELD und NATZSCHKA) ergaben ein Ausbleiben von oxydativen Enzymreaktionen als Frühsymptom der Bilirubintoxizität (6).

Heterozygote Gunn-Ratten sind nicht ikterisch. Sie besitzen zwar eine eingeschränkte Glucuronidierungsfähigkeit, die aber für normale Belastungen ausreicht. Eine Bilirubinencephalopathie tritt bei ihnen spontan nicht auf (11).

II. METHODE

A. Versuchspräparate

In Tabelle 1 sind die getesteten Beta-Lactam-Antibiotika aufgeführt, sowie Abkürzungen angegeben, die in den folgenden Abbildungen und Tabellen benutzt werden.

Tabelle 1: Aufstellung der verwendeten Präparate

a) Einzelpräparate

A: Ampicillin (Penbrock, Beecham)
C: Carbenicillin (Anabactyl, Beecham)
P: Penicillin G (Penicillin "Grünenthal", Grünenthal)
O: Oxacillin (Stapenor, Bayer)
Cl: Cloxacillin (Orbenin, Beecham)
Dic: Dicloxacillin (Dichlor-Stapenor, Bayer)
Flu: Flucloxacillin (Staphylex, Beecham)
Cefaz: Cefazolin (Gramaxin, Boehringer Mannheim)
Cephal: Cephalotin (C. "Lilly", Lilly)

b) Zweier-Kombinationen

A+C[+]: Ampicillin+Carbenicillin
A+P: Ampicillin+Penicillin G
A+O: Ampicillin+Oxacillin
A/O[++]: Ampicillin/Oxacillin 3:2 (Totocillin, Bayer)
A+Cl: Ampicillin+Cloxacillin
A/Cl: Ampicillin/Cloxacillin 2:1 (Ampiclox, Beecham)
A+Dic: Ampicillin+Dicloxacillin
A+Flu: Ampicillin+Flucloxacillin
C+P: Carbenicillin+Penicillin G
C+O: Carbenillin+Oxacillin
C/O: Carbenicillin/Oxacillin 3:1 (Resistopen, Bayer)
C+Cl: Carbenicillin+Cloxacillin
C/Cl: Carbenicillin/Cloxacillin 10:1 (Pyoclox, Beecham)
C+Dic: Carbenicillin+Dicloxacillin
C+Flu: Carbenicillin+Flucloxacillin
P+O: Penicillin G+Oxacillin
P+Cl: Penicillin G+Cloxacillin

P+Dic: Penicillin G+Dicloxacillin
P+Flu: Penicillin G+Flucloxacillin
Cefaz+Flu: Cefazolin+Flucloxacillin
Cephal+Flu: Cephalotin+Flucloxacillin

c) Dreier-Kombinationen

A+C+Flu: Ampicillin+Carbenicillin+Flucloxacillin
A+P+Flu: Ampicillin+Penicillin G+Flucloxacillin
C+P+Flu: Carbenicillin+Penicillin G+Flucloxacillin
A/Cl+C: Ampicillin/Cloxacillin 2:1 (Ampiclox)+Carbenicillin
A/Cl+P: Ampicillin/Cloxacillin 2:1 (Ampiclox)+Penicillin G

+) Das + in Abkürzung A+C zeigt an, daß die Mischung von mir vorgenommen wurde.

++) Der / in Abkürzung A/O weist darauf hin, daß es sich um ein fertiges Kombinationspräparat handelt.

Alle getesteten Antibiotika entstammen Klinikpackungen. Kombinationspräparate (Totocillin, Ampiclox, Resistopen, Pyoclox) wurden sowohl in der Handelsform (17), als auch in einer selbst hergestellten Mischung getestet. Die Medikamente wurden subkutan (sc.) unter eine Hautfalte am Rücken der jungen Ratte injiziert und zwar, erstens als hochdosierte Einzeldosis bei Einzel- und Zweier-Präparaten, zweitens bei Dreier-Kombinationen in klinisch üblicher Dosis an fünf aufeinanderfolgenden Tagen.

Die Trockensubstanzen wurden in Aqua dest. gelöst. Die applizierten Volumina betrugen 0,01 ml/g KG bei Einzel- und handelsüblichen Kombinationspräparaten, 0,02 ml/g KG bei selbst hergestellten Zweier-Kombinationen und bei Dreier-Kombinationen 0,03 ml/g KG. Kontrolltieren (31 homozygote Gunn-Ratten) wurden entsprechende Volumina (0,01-0,03 ml/g KG) 0,9 % NaCl-Lösung injiziert.

Sämtliche Dosisangaben in den nachfolgenden Abbildungen und Tabellen werden sich auf mg/kg bzw. IE/kg KG Ratte beziehen (3).

B. Versuchstiere

a) Heterozygote Gunn-Ratten

Es wurden insgesamt 760 heterozygote, also nicht ikterische Gunn-Ratten aus 178 Würfen verwendet, und zwar als medikamentenfreie Kontrolltiere (Saugkontrollen) zur Ermittlung des normalen Gewichtszuwachses während des Versuchs und als Versuchstiere zur Bestimmung der akuten Toxizität (LD 50) (12) eines jeden Medikamentes. Die Tiere waren 3-5 Tage alt und 6-10 g schwer. Alle Tiere wurden durch Markierungen an den Zehen gezeichnet. Um eine gute Ernährung zu gewährleisten, wurden höchstens 8 Junge zu einer laktierenden Rattenmutter gegeben (Abb. 1).

Abb. 1: Gunn-Rattenmutter mit 3-5 Tage alten Versuchstieren

Die Ernährung der Rattenmütter bestand aus Standard-Trockenfutter (Altromin R15) und Leitungswasser ad libitum. Die für Toxizitätstests bestimmten Tiere wurden vor Versuchsbeginn und in den darauffolgenden 4 Tagen gewogen. Diejenige Medikamentendosis, die bei einmaliger Gabe 50 % der heterozygoten Versuchstiere tötete, wurde als LD 50 des betreffenden Präparates an-

gesehen (Methode nach Behrens und Kärber) (8). Diejenigen Versuche, in denen die medikamentenfreien Kontrolltiere starben oder unterdurchschnittlichen Gewichtszuwachs zeigten, wurden in meinen Auswertungen nicht berücksichtigt.

b) Homozygote Gunn-Ratten

650 homozygote, ikterische Gunn-Ratten aus 172 Würfen dienten für die Hauptversuche. Auch diese Tiere waren 3-5 Tage alt und wogen zwischen 6 und 10 g. Schon wenige Stunden nach der Geburt waren sie durch ihr gelbes Hautkolorit von heterozygoten Geschwistern zu unterscheiden (10). Alle Tiere wurden vor Versuchsbeginn gewogen und an den Zehen gezeichnet. Bei den homozygoten Gunn-Ratten wurde nach der Medikamenteninjektion die Gewichtszunahme und die Mortaltätsrate ermittelt, die Serumbilirubinkonzentration bestimmt und das Kleinhirn histochemisch untersucht (6). Eine Versuchsreihe bestand aus höchstens 8 Tieren, einschließlich eines medikamentenfreien bzw. mit 0,9 % NaCl-Lösung injizierten Kontrolltieres. Die Medikamente (Monoantibiotikum bzw. Zweier-Kombination) wurden als hochdosierte Einzeldosis subkutan unter eine Hautfalte am Rücken der Tiere injiziert. Vor, sowie 30 Minuten, 3 und 24 Stunden nach der Injektion wurde in Hämatokritkapillaren Blut aus dem Schwanzende oder einem Zeh entnommen (insgesamt etwa 80 μl). In der ersten halben Stunde wurden die Versuchstiere erst in einem dunklen Brutschrank gehalten, um nach der 2. Blutentnahme wieder der Rattenmutter in einem dunklen Raum zugesetzt zu werden. Die blutgefüllten Hämatokritkapillaren wurden 5 Minuten lang bei 3000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Nach der Hämatokritbestimmung wurde das Serumbilirubin direkt photometrisch gegen einen Standard in einem Bilirubinometer (American Optical Corporation) gemessen. Der vor Medikamenteninjektion bestimmte Serumbilirubin-Ausgangswert (zwischen 7 mg/dl und 9 mg/dl) ist in den Abbildungen als 100 bezeichnet, die folgenden 3 Bestimmungen sind in Prozent dieses Ausgangswertes (0-Wert) angegeben (3, 4, 23). Die Versuchsdauer mit täglichen Gewichtsmessungen betrug 4 Tage. Die Überlebensrate errechnete sich aus dem Verhältnis

der am 4. Tag post injectionem noch lebenden Tiere zur Anzahl der Tiere bei Versuchsbeginn (Versuche mit unterdurchschnittlicher Gewichtszunahme der Saugkontrollen wurden, wie schon erwähnt, nicht ausgewertet). Die Versuchsperiode überlebende Tiere wurden am 10. Tag nach Versuchsbeginn dekapitiert, um die rasch freipräparierten Gehirne der histochemischen Untersuchung zuzuführen.

Die Versuchsreihen mit Dreier-Kombinationen gestalteten sich etwas anders. Hier wurde die Medikamentenlösung in klinisch üblicher Dosierung an 5 aufeinanderfolgenden Tagen subkutan appliziert. Die Serumbilirubinbestimmung erfolgte lediglich vor, sowie 30 Minuten nach der ersten (1. Tag) und fünften Injektion (5. Tag). Auch diese Versuchstiere wurden am 10. Tag nach Versuchsbeginn getötet und deren Kleinhirne histochemisch untersucht.

Bei der histochemischen Untersuchung wurde folgendermaßen vorgegangen: Die herauspräparierten Gehirne wurden gewogen und im Schnellfrierverfahren mit CO_2 eingefroren. Im Kryostaten wurden 8-10 μ dicke Schnitte hergestellt und folgende Enzyme histochemisch bestimmt:

Die Laktat-Dehydrogenase (LDH), die Nicotinamid-Dehydrogenase-Tetrazolium-Reduktase (NADH2-R) und die Succinat-Dehydrogenase (SDH). Als Tetrazoliumsalz wurde Nitro BT benutzt. Der Nachweis oxydativer Enzyme hat sich als empfindlicher Indikator für die bilirubinbedingte Störung der Zellatmung erwiesen (HANEFELD und NATZSCHKA) (6). Als Kontrollen dienten Hirnschnitte heterozygoter Tiere. Fast jede homozygote Gunn-Ratte zeigt aufgrund der Hyperbilirubinämie im Alter von 8-14 Tagen auch ohne exogene Stimulantien histochemisch erkennbare Schäden der Purkinje-Zellen. Deshalb wurde der Grad des Purkinjezellverlustes folgendermaßen bewertet (3, 23):

N bis +: Altersentsprechender, "physiologischer" Zellverlust.

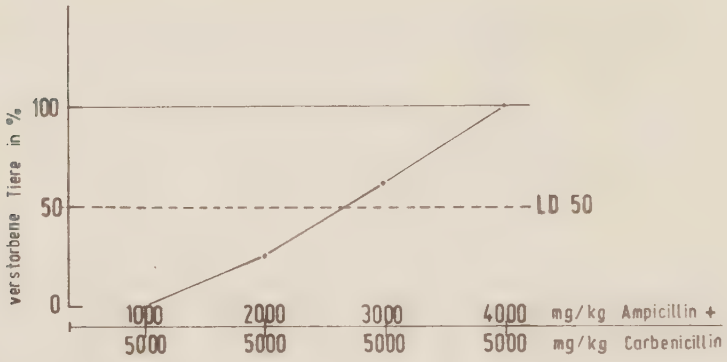
++: Über die "physiologische" Schädigung hinausgehender Zellverlust.

Die Beurteilung der Schnitte hat HANEFELD durchgeführt (auch an dieser Stelle möchte ich ihm dafür danken).

III. ERGEBNISSE

A. Heterozygote Gunn-Ratten

Die akute Toxizität (LD 50) der getesteten Beta-Lactam-Antibiotika ist in Tab. 2 dargestellt. In Abb. 2 ist das Vorgehen bei der Toxizitätsbestimmung anhand der Dosis-Letalitätskurve (12) von Ampicillin/Carbenicillin veranschaulicht.



Anzahl der Tiere	4	4	10	5
verstorbene Tiere	0	1	6	5

Abb. 2 Dosis - Letalitätskurve von heterozygoten 3 - 5 Tage alten Gunn-Ratten nach Injektion von Ampicillin und Carbenicillin (unterschiedl. hohe Dos.)

Bei Zweier-Kombinationen wurde nur die Dosis eines Antibiotikums variiert. So wird beispielsweise die Kombination von 3000 mg/kg Ampicillin plus 5000 mg/kg Carbenicillin von 50 % der heterozygoten Versuchstiere nicht überlebt (Abb. 2, Tab. 2).

Die LD 50 von Ampicillin, Carbenicillin, Penicillin und Flucloxacillin (Tab. 2) stimmt mit früher veröffentlichten Ergebnissen von BALLOWITZ und HANEFELD überein (3). Die Isoxazolyl-Penicilline (Oxacillin, Cloxacillin, Dicloxacillin, Flucloxacillin) zeigen untereinander (als Monoantibiotikum und in Kombination mit Ampicillin, Carbenicillin und Penicillin) keine

Tab. 2: Ungefähre LD 50 bei heterozygoten Gunn-Ratten und durchschnittliche Gewichtszunahme der überlebenden Tiere (mit Standardabweichung) innerhalb von 4 Tagen

Präparat	Ungefähre LD 50 (sc.-Einzeldosis in mg/kg bzw. IE/kg)	Gewichtszunahme (g) in 4 Tagen; Anzahl der Tiere in ( )	Standard-abweichung (+/-)
A	6500	2,58 (5)	1,15
A+C[+)]	3000+5000	3,19 (4)	1,01
A+P	2000+2 Mill. IE	4,35 (8)	0,57
A+O	3000+1000	0,76 (4)	1,21
A/O[++)] (3:2)	2100/1400	3,61 (3)	1,54
A+Cl	2000+1000	0,91 (3)	1,10
A/Cl (2:1)	2400/1200	3,32 (8)	1,86
A+Dic	3000+500	4,32 (4)	2,25
A+Flu	3000+800	4,96 (6)	0,51
C	8000	2,83 (4)	0,11
C+P	2000+2 Mill. IE	3,20 (5)	0,51
C+O	5000+500	2,59 (4)	0,16
C/O (3:1)	3300/1100	3,16 (3)	0,71
C+Cl	5000+500	4,73 (4)	1,28
C/Cl (10:1)	5000/500	3,02 (6)	0,78
C+Dic	5000+500	3,73 (4)	2,35
C+Flu	5000+500	3,85 (3)	0,23
P	3 Mill. IE	3,68 (4)	0,45
P+O	2 Mill. IE+500	2,13 (8)	0,86
P+Cl	2 Mill. IE+500	2,33 (6)	2,29
P+Dic	2 Mill. IE+500	1,85 (4)	0,74
P+Flu	2 Mill. IE+500	1,25 (3)	0,82
O	1000	4,30 (12)	0,76
Cl	1000	2,26 (9)	0,85
Dic	1000	1,57 (4)	0,86
Flu	1000	3,53 (7)	1,17

+) und ++): siehe Erklärung wie Tab. 1.

wesentlichen Toxizitätsunterschiede. Dies gilt sowohl für die im Handel befindlichen Kombinationspräparate als auch für die in gleichen Relationen hergestellten Mischungen. Der LD 50-Bereich liegt bei allen Präparaten über dem Zehnfachen der klinisch üblichen Dosierung (3, 17). Die Gewichtszunahme der überlebenden Tiere innerhalb von 4 Tagen zeigt bei den Heterozygoten eine breite Streuung: Sowohl annähernd normaler, als auch deutlich eingeschränkter Gewichtszuwachs. Die normalen Gewichtszunahmen heterozygoter Kontrolltiere sind in Abb. 3 veranschaulicht. Hier ist abhängig vom Ausgangsgewicht eine Differenzierung in 2 Gruppen vorgenommen worden. Wegen der relativ kleinen Zahl der Versuchstiere pro Antibiotikum mußte in den Hauptversuchen auf eine derartige Unterteilung verzichtet werden.

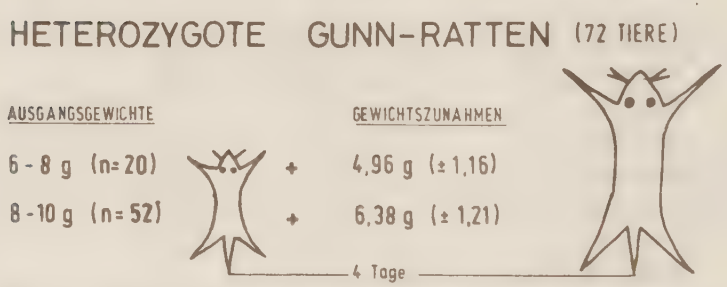


Abb. 3: Durchschnittliche Gewichtszunahmen der medikamentenfreien Kontrolltiere (innerhalb von 4 Tagen)

B. Homozygote Gunn-Ratten

a) Gewichtszunahme und 4-Tage-Überlebensrate

Die Gewichtszunahmen von 61 homozygoten Kontrolltieren (Saugkontrollen), eingeteilt in 2 Gewichtsgruppen, sind in Abb. 4 dargestellt.

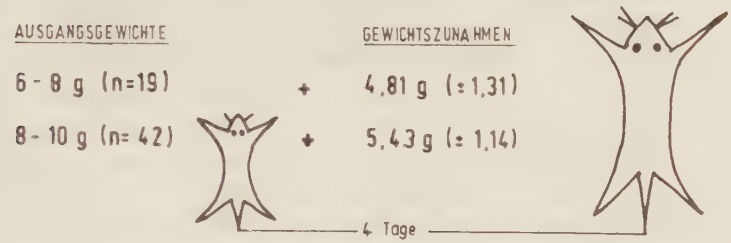


Abb. 4 DURCHSCHNITTLICHE GEWICHTSZUNAHMEN DER MEDIKAMENTFREIEN KONTROLLTIERE (INNERHALB VON 4 TAGEN)

Homozygote nehmen nach den Beobachtungen von WIRJADI (33) etwas weniger rasch an Gewicht zu als Heterozygote. In meinen Vergleichsgruppen kann der Unterschied jedoch nicht als statistisch signifikant angesehen werden (Abb. 3/4).

Tab. 3 zeigt die durchschnittliche Gewichtszunahme und Überlebensrate der homozygoten Ratten innerhalb der 4tägigen Versuchsperiode. Die Medikamentendosis entspricht ungefähr 50 % der an heterozygoten Tieren bestimmten LD 50 (3, 35). Sie wurde als Einzeldosis subkutan appliziert (s.S.18).

Verglichen mit den durchschnittlichen Gewichtszunahmen der Kontrolltiere zeigen die unter 5., 10., 18., 19. und 21. aufgeführten Tiere einen deutlich geringeren Gewichtszuwachs, wobei die Überlebensrate nach 4 Tagen über 50 % beträgt. Bei dem Vergleich von Gewichtszunahme und Überlebensrate ist auffällig, daß trotz erhöhter Letalität (50 % und mehr) in einzelnen Gruppen die überlebenden Tiere gut an Gewicht zugenommen haben, so bei 6., 13. und 28. Bei hoher Überlebensrate (über 90 %) in den 8 Gruppen 14, 16, 20, 23, 24, 25, 29 und 30 beträgt der Gewichtszuwachs fünfmal mehr als 4,25 g und dreimal zwischen 3,5 und 3,9 g, liegt also relativ hoch. Man muß daraus folgern, daß die Toxizität des Medikamentes nur einen bedingten Einfluß auf den Gewichtszuwachs hat. Letzterer wird entscheidend

Tab. 3: Durchschnittliche Gewichtszunahme (+/-Standardabweichung) und 4 Tage-Überlebensrate junger homozygoter Gunn-Ratten nach Injektion von Beta-Lactam-Antibiotika

Präparat		Sc.-Einzeldosis in mg/kg bzw. IE/kg	Durchschnittl. Gewichtszuwachs (g) innerh. v. 4 Tagen (+/- Standardabw.)	Anzahl der Versuchst.	Anzahl der überlebenden Tiere
1. A		5000	2,79 (1,63)	30	23
2. A+C		1000+3000	3,93 (1,65)	15	13
3. A+P		1000+1 Mill.IE	6,74 (0,92)	9	8
4. A+O		1200+800	3,59 (0,57)	29	10
5. A/O	(3:2)	1200/800	1,88 (1,39)	10	6
6. A+Cl		1400+700	4,15 (0,95)	12	5
7. A/Cl	(2:1)	1400+700	6,27 (1,42)	15	9
8. A+Dic		750+500	2,16 (1,62)	11	9
9. A+Flu		1250+650	3,73 (1,19)	14	11
10. C		4000	1,53 (1,18)	9	5
11. C+P		2000+1 Mill.IE	2,33 (0,81)	8	6
12. C+O		1500+500	3,68 (1,92)	9	3
13. C/O	(3:1)	1500/500	4,75 (0,61)	19	9
14. C+Cl		2000+200	3,62 (0,86)	11	10
15. C/Cl	(10:1)	2000/200	6,09 (1,37)	8	7
16. C+Dic		1000+250	3,52 (0,42)	8	8
17. C+Flu		2000+200	5,51 (1,98)	12	8
18. P		2 Mill. IE	1,83 (1,08)	19	12
19. P+O		1 Mill. IE+250	1,31 (1,26)	11	9
20. P+Cl		1 Mill. IE+250	6,92 (1,02)	8	8
21. P+Dic		1 Mill. IE+250	1,75 (0,74)	12	8
22. P+Flu		2 Mill. IE+200	5,12 (1,65)	16	10
23. O		750	4,31 (0,89)	8	8
24. Cl		500	4,69 (1,66)	12	11
25. Dic		500	3,90 (1,82)	12	11
26. Flu		500	4,45 (1,86)	13	11
27. Cefaz		1000	4,42 (1,40)	10	8
28. Cefaz/Flu		1000+200	5,23 (0,94)	10	5
29. Cephal		1000	4,25 (0,78)	5	5
30. Cephal+Flu		1000+200	5,77 (0,38)	5	5

+) und ++): siehe Erklärung wie Tab. 1

von der Qualität der Laktation beeinflußt und ist deshalb schwer faßbaren Schwankungen unterworfen (3). Es ist deshalb auch nicht verwunderlich, daß geringe bzw. nicht gute Gewichtszunahme bei homo- und heterozygoten Jungen nicht direkt parallel geht (vergleiche Tab. 2 und 3).

Die Zweier-Kombinationen lassen keinen auffälligen Unterschied zu Monopräparaten erkennen. Als Einzelpräparate haben die Isoxazolyl-Penicilline (Tab. 3: 23.-26.) in den angegebenen Dosierungen keinen erkennbaren toxikologischen Einfluß. Reduzierte Überlebenschancen (50 % und weniger) zeigen sich nach Injektionen von Ampicillin plus Oxacillin, Ampicillin plus Cloxacillin, Carbenicillin plus Oxacillin sowie Cefazolin plus Flucloxacillin. Die drei erstgenannten Kombinationen sind sowohl als fertige Handelspräparate (Tab. 3: 5., 7. und 13.),als auch in selbst hergestellten Mischungen (Tab. 3: 4., 6. und 12.) getestet worden. Die Ergebnisse zeigen Ähnlichkeiten, aber keine volle Übereinstimmung.

b) Serumbilirubin-Bestimmung

In Abb. 5 ist die mittlere Serumbilirubinkonzentration von 42 homozygoten Kontrolltieren, die ohne Injektion blieben und von 31 homozygoten Tieren, denen 0,01 ml bzw. 0,02 ml/g KG 0,09 % NaCl-Lösung subkutan injiziert wurde, dargestellt (s. S. 20).

30 Minuten nach der Injektion zeigt sich ein geringer Abfall des Serumbilirubins, nach 24 Stunden der altersphysiologische Anstieg. Der Abfall 30 Minuten nach NaCl-Gabe ist im Vergleich zu dem der Tiere ohne Injektion nicht signifikant (14).

Nach Antibiotika-Injektionen ergab sich ein anderes Bild (Abb. 6 -16). Der Übersichtlichkeit halber sind nur die Versuche graphisch dargestellt, bei denen sich deutliche Veränderungen ergaben. Bei diesen Darstellungen zeigt sich ein Abfall der Serumbilirubinkonzentration 30 Minuten post injectionem und in den meisten Fällen ein leichter Wiederanstieg nach 3 Stunden (s.S.23).

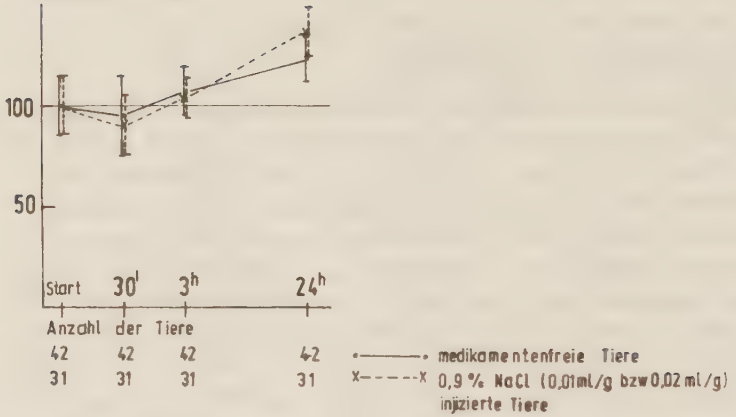


Abb. 5 Serumbilirubinkonzentrationen bei 3-5 Tagen alten homozygoten medikamentenfreien bzw. mit 0,09 % NaCl injizierten Gunn-Ratten (mit Standardabweichungen)

Die 24-Stunden-Werte lagen alle über dem Ausgangsbilirubinwert (im allgemeinen im altersphysiologischen Bereich). Der Konzentrationsabfall post injectionem läßt sich damit erklären, daß die Medikamente das Bilirubin passager aus der Eiweißbindung verdrängen und somit zu einem Anstieg des ungebundenen, gewebegängigen Bilirubins führen (3, 10, 35). Diese Bilirubinfraktion wandert aus dem Plasma in das Gewebe (oder an die Erythrocyten) ab, was sich an dem Abfall der Serumbilirubinkonzentration erkennen läßt.

Eine deutliche Verringerung des Serumbilirubins (bis auf 60 % des Ausgangswertes nach 30 Minuten) ließ sich bei den Kombinationen Ampicillin plus Oxacillin (Totocillin, Abb. 7), Carbenicillin plus Oxacillin (Resistopen, Abb. 11) sowie Carbenicillin plus Cloxacillin (Pyoclox, Abb. 10) feststellen. Flucloxacillin (Abb. 13), Cephalotin (Abb. 15) und Cefazolin (Abb. 16) ergaben bei hoher Dosierung ebenfalls einen ausgeprägten Abfall der Serumbilirubinkonzentration (auf 50-60 % des Aus-

gangswertes nach 30 Minuten). Wie aus Abb. 13 und 14 zu entnehmen ist, bewirkt Flucloxacillin innerhalb der Isoxazolylpenicillin-Gruppe die deutlichste Senkung der Serumbilirubinkonzentration 30 Minuten nach Versuchsbeginn. Der Unterschied zu den anderen Präparaten dieser Gruppe, vor allem zum Oxacillin, dessen bilirubinverdrängende Wirkung schon 1972 von STERN (24) hervorgehoben wurde, ist nicht sehr groß.

Inwieweit bei Kombinationen ein summierender Effekt erkennbar wird, läßt sich unter anderem aus Abb. 7 und 13 ersehen. Die Kombination von 1200 mg/kg Ampicillin plus 800 mg/kg Oxacillin bewirkte im Vergleich zum Einzelpräprat Oxacillin (750 mg/kg) eine um 15 rel.% stärkere Senkung der Serumbilirubinkonzentration nach 30 Minuten und 20 rel.% nach 3 Stunden.

Ein fast gleich starker Effekt ergab sich nach: 1500 mg/kg Carbenicillin plus 500 mg/kg Oxacillin (Abb. 11) - 2000 mg/kg Carbenicillin plus 1 Mill. IE/kg Penicillin G (Abb. 10) - 3000 mg/kg Carbenicillin plus 1000 mg/kg Ampicillin (Abb. 6) und nach 4000 mg/kg Carbenicillin (Abb. 10).

Ein ähnlicher, insgesamt etwas geringerer Effekt zeigte sich nach: 1400 mg/kg Ampicillin plus 700 mg/kg Cloxacillin (Abb. 8) - 750 mg/kg Ampicillin plus 500 mg/kg Dicloxacillin (Abb. 9) - 1250 mg/kg Ampicillin plus 650 mg/kg Flucloxacillin (Abb. 9).

Steigende Bilirubinverdrängung ließ sich in folgender Reihenfolge erkennen:
5000 mg/kg Ampicillin allein (Abb. 6) - 1400 mg/kg Ampicillin plus 700 mg/kg Cloxacillin (Abb. 8) - 1200 mg/kg Ampicillin plus 800 mg/kg Oxacillin (Abb. 7).

1 Mill. IE/kg Penicillin G plus 250 mg/kg Oxacillin verdrängte mehr Bilirubin als 2 Mill. IE/kg Penicillin G allein (Abb. 12) und etwa gleich viel (nach 30 Minuten geringfügig mehr) wie 750 mg/kg Oxacillin allein (Abb. 13). Nach Hinzufügen von 200 mg/kg Flucloxacillin zu 1000 mg/kg Cephalotin bzw. Cefazolin ließ sich keine bzw. nur eine geringfügig verstärkte Bilirubinverdrängung durch den Flucloxacillin-Zusatz ablesen (Abb. 15/16).

Die Anzahl der Testtiere war, wie aus den Abb. 6-16 ersichtlich, oft nur klein. Deshalb wurden in den Zeichnungen weder Standardabweichungen angegeben, noch Signifikanzberechnungen angestellt. Die gerade geschilderten Unterschiede in der Bilirubinverdrängung durch verschiedene Medikamentenkombinationen können somit nur als Trend gewertet werden. Lediglich bei Abb. 6 erschien eine statistische Überprüfung der Unterschiede mit Hilfe des U-Tests sinnvoll. Das Ergebnis ist, daß der Unterschied bei 30 Minuten nicht signifikant erscheint, bei 3 und 24 Stunden die Unterschiede aber mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0{,}01$ nicht zufällig sind.

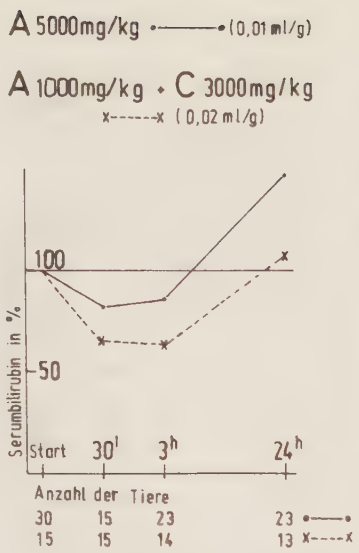


Abb 6

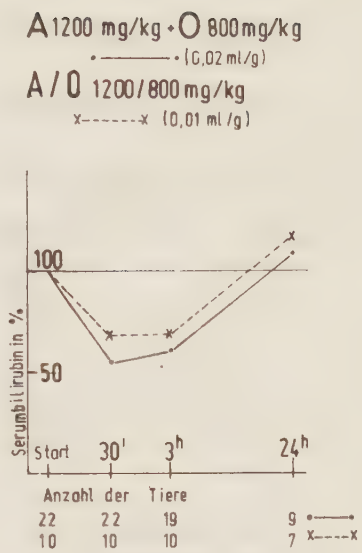


Abb 7

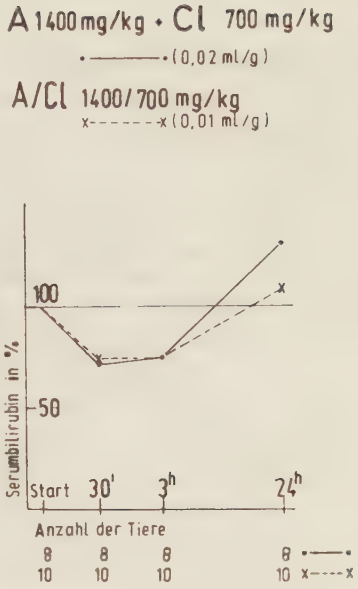


Abb 8

Abb. 6 - 16: Serumbilirubinkonzentrationen bei 3-5 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten nach Injektion von Beta-Lactam-Antibiotika (einzeln und in Kombination)

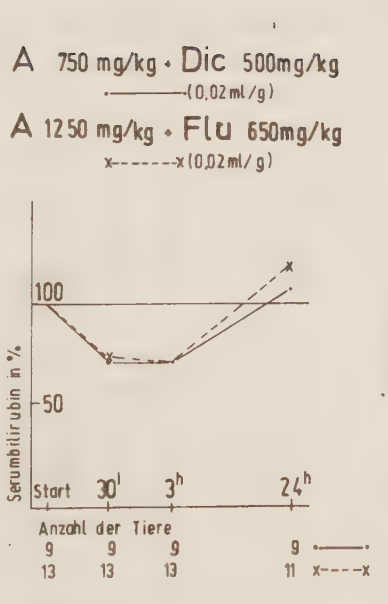


Abb 9

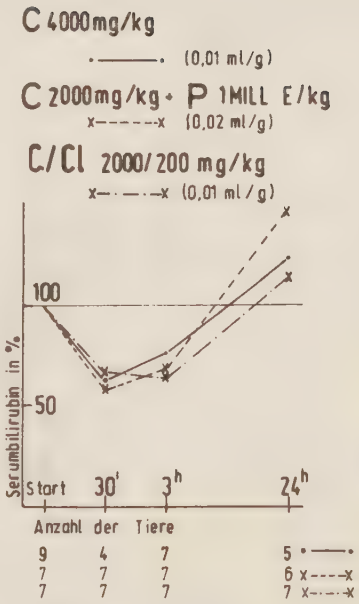


Abb 10

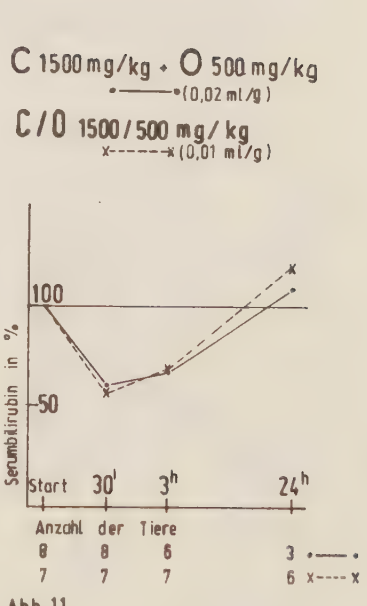
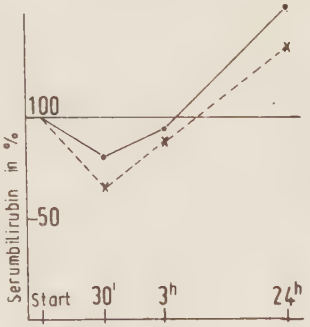


Abb 11

P 2 MILL E/kg •——•(0,01 ml/g)

P 1 MILL E/kg + O 250 mg/kg
x----x (0,02 ml/g)



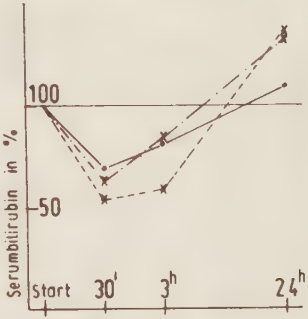
Anzahl der Tiere			
19	13	13	12 •—•
11	11	11	10 x----x

Abb 12

O 750 mg/kg •——•(0,01 ml/g)

Flu 1000 mg/kg x-----x(0,01 ml/g)

Flu 500 mg/kg x-·-·-x(0,01 ml/g)



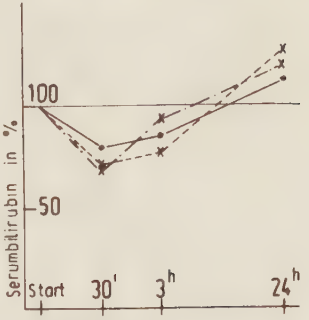
Anzahl der Tiere			
8	8	8	8 •—•
9	4	9	2 x----x
40	29	25	28 x-·-·-x

Abb 13

Cl 500 mg/kg •——•(0,01 ml/g)

Dic 500 mg/kg x-----x (0,01 ml/g)

O 500 mg/kg x-·-·-·-x (0,01 ml/g)



Anzahl der Tiere			
12	12	9	11 •—•
12	12	8	11 x---x
16	14	14	16 x-·-·-x

Abb 14

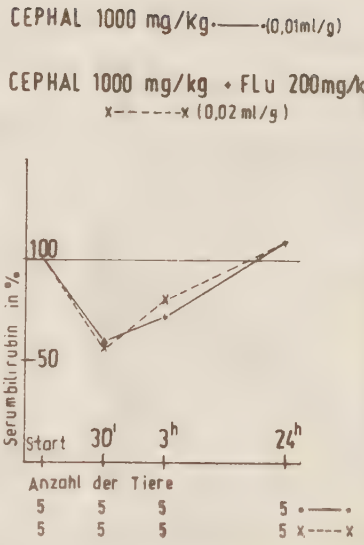

CEPHAL 1000 mg/kg •——• (0,01ml/g)
CEPHAL 1000 mg/kg + Flu 200mg/kg
x------x (0,02 ml/g)
100
50
Serumbilirubin in %
Start
30'
3h
24h
Anzahl der Tiere
5 5 5 5 •——•
5 5 5 5 x----x

Abb 15

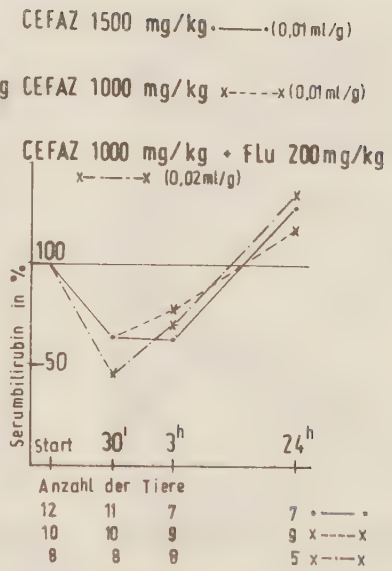

CEFAZ 1500 mg/kg •——• (0,01 ml/g)
CEFAZ 1000 mg/kg x----x (0,01 ml/g)
CEFAZ 1000 mg/kg + Flu 200mg/kg
x——x (0,02ml/g)
100
50
Serumbilirubin in %
Start
30'
3h
24h
Anzahl der Tiere
12 11 7 7 •——•
10 10 9 9 x----x
8 8 8 5 x-·-x

Abb 16

Die Ergebnisse der Dreier-Kombinationen, die in klinisch üblicher Dosierung über einen Zeitraum von 5 Tagen verabreicht wurden, sind in den Abb. 17 bis 21 zusammengefaßt. Bei diesen Versuchen wurden lediglich am ersten und am fünften Versuchstag Serumbilirubinkonzentrationen bestimmt. Zu Beginn lag das Alter der homozygoten Tiere, wie in den übrigen Versuchen, bei 3-5 Tagen. Bei den Gewichtszunahmen fand sich keine Abweichung von der Norm, alle Tiere überlebten die Versuchsperiode.

In den Abbildungen ist nur die Differenz des Serumbilirubingehalts vor und 30 Minuten nach Injektion erfaßt. Der Serumbilirubin-Ausgangswert des 1. Tages ist als 100 bezeichnet, die folgenden 3 Messungen sind in Prozent dieses Anfangswertes angegeben. Am 1. Tag veranschaulicht die Basis der Säule (schwarz = Versuchstiere, weiß = Kontrolltiere) den Serumbilirubinwert 30 Minuten post injectionem. Am 5. Tag stellt das obere Plateau der Säule den Bilirubingehalt vor der Injektion und die Basis der Säule den 30 Minuten nach der 5. Injektion dar.

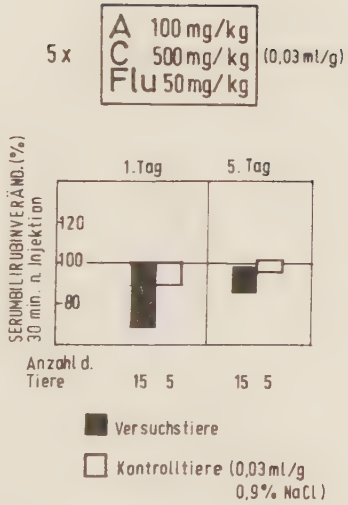


Abb 17

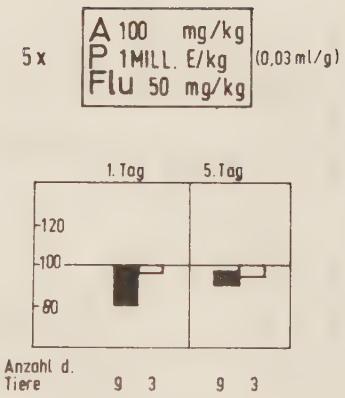


Abb 18

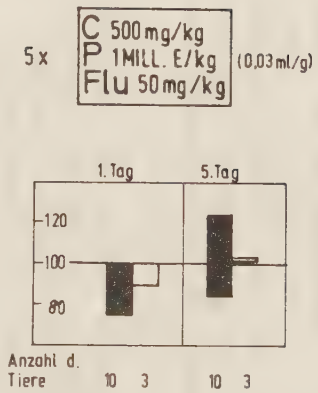
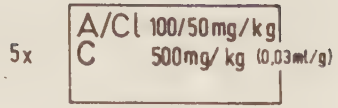


Abb 19

Abb. 17-21: Serumbilirubinkonzentrationen bei 3-5 Tage alten homozygoten Gunn-Ratten nach Dreier-Kombination-Injektion von Beta-Lactam-Antibiotika (in klinisch üblicher Dosierung an 5 aufeinanderfolgenden Tagen).


5x
A/Cl 100/50 mg/kg
C 500 mg/kg (0,03 ml/g)

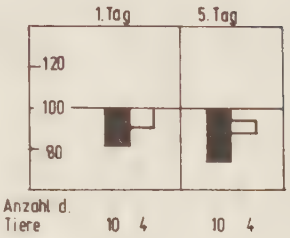
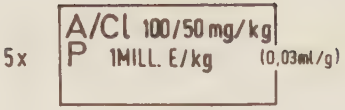

1. Tag
5. Tag
120
100
80
Anzahl d. Tiere
10 4
10 4

Abb 20


5x
A/Cl 100/50 mg/kg
P 1 MILL. E/kg (0,03 ml/g)

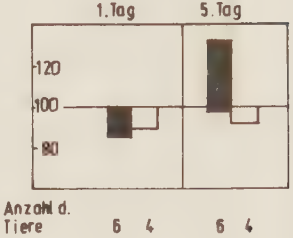

1. Tag
5. Tag
120
100
80
Anzahl d. Tiere
6 4
6 4

Abb 21

Es zeigte sich in allen Gruppen nach der Medikamenteninjektion ein stärkerer Bilirubinabfall als nach Injektion von 0,03 ml/g KG 0,9 % NaCl-Lösung. Bemerkenswert war, daß, wie aus Abb. 17, 18 und 20 ersichtlich, am 5. Tag die Serumbilirubinkonzentration nicht höher lag als am 1. Tag.

c) Histochemische Untersuchung

Die Ergebnisse der histochemischen Kleinhirnuntersuchungen, die von HANEFELD und KRETSCHMER durchgeführt wurden, sind in Tab. 4 dargestellt. Die überlebenden Tiere wurden 10 Tage nach Versuchsbeginn dekapitiert. Als Vergleich wurden 54 Kleinhirne homozygoter Kontrolltiere (Saugkontrollen), die ohne Injektion blieben, mitbewertet. Das Ergebnis:
50 % der untersuchten Kleinhirne zeigten keinen Purkinje-Zellverlust, was mit "N" bezeichnet wurde. 33 % der sezierten Kleinhirne von homzygoten Kontrolltieren ließ einen mäßigen, mit einem Plus (+) bezeichneten Zellverlust erkennen, während bei 17 % ein deutlicher, mit zwei Plus (++) bewerteter Purkinje-Zellverlust auftrat (s. S. 12).

In der 2. bis 4. Spalte der Tabelle 4 finden sich Absolutzahlen, in der 5. Spalte Prozentwerte der vorgefundenen deutlichen Purkinje-Zellverluste nach den Medikamenteninjektionen. (N)- und (+)-Befunde sind in einer Gruppe zusammengefaßt.

Tab. 4: Wertung des Purkinje-Zellverlustes (PZV) am Kleinhirn homozygoter Gunn-Ratten nach Injektion von Beta-Lactam-Antibiotika

Präparat (sc.-Einzeldosis in mg/kg bzw. IE/kg)	Anzahl der Versuchstiere	Anzahl der Normalbefunde (N/+)	Anzahl deutlicher PZV (++)	Deutlicher PZV (++) in Prozent
1. A 5000	3	3	-	+)
2. A+C 1000+3000	9	5	4	44
3. A+P 1000+1 Mill.IE	3	2	1	+)
4. A+O 1200+800	8	1	7	88
5. A/O 1200/800	2	2	-	+)

Präparat (sc.-Einzeldosis in mg/kg bzw. IE/kg)	Anzahl der Versuchstiere	Anzahl der Normalbefunde (N/+)	Anzahl deutlicher PZV (++)	Deutlicher PZV (++) in Prozent
1.-5. s. 30				
6. A+Cl 1400+700	3	2	1	+)
7. A/Cl 1400/700	4	3	1	25
8. A+Dic 750+500	5	2	3	60
9. A+Flu 1250+650	9	2	7	78
10. C 4000	5	3	2	40
11. C+P 2000+1 Mill.IE	4	2	2	50
12. C+O 1500+500	3	1	2	+)
13. C/O 1500/500	10	1	9	90
14. C+Cl 2000+200	7	3	4	57
15. C/Cl 2000/200	3	3	-	+)
16. C+Dic 1000+250	9	4	5	56
17. C+Flu 2000+200	5	2	3	60
18. P 2 Mill. IE	4	1	3	75
19. P+O 1 Mill.IE+250	4	3	1	25
20. P+Cl 1 Mill.IE+250	5	5	-	0
21. P+Dic 1 Mill.IE+250	2	-	2	+)
22. P+Flu 2 Mill.IE+200	8	4	4	50
23. O 750	8	7	1	12
24. Cl 500	7	7	-	0
25. Dic 500	7	3	4	57
26. Flu 500	7	7	-	0
(27.-30.) keine Untersuchungen				
5-Tage-Versuche:				
31. 5x(A/C/Flu 100/500/50)	15	8	7	47
32. 5x(A/P/Flu 100/1 Mill. IE/50)	9	6	3	33
33. 5x(C/P/Flu 500/1 Mill. IE/50)	7	-	7	100
34. 5x(A/Cl/C 100/50/500)	11	8	3	27
35. 5x(A/Cl/P 100/50/1 Mill. IE)	3	3	-	+)

+) Bei den Nummern 1, 3, 5, 6, 12, 15, 21 und 35 können aufgrund der sehr geringen Zahl untersuchter Tiere keine Prozentwerte angegeben werden.

Bei der Beurteilung einer bilirubinbedingten Purkinje-Zellschädigung wurde ein deutlicher PZV (mit zwei Plus symbolisiert) von über 50 % als pathologisch bewertet (bei den medikamentenfreien Kontrolltieren fand sich bei 17 % der Tiere ein vergleichbarer Befund). Aus Tab. 4 läßt sich entnehmen, daß (mit abnehmender Signifikanz) nach den unter 13., 4., 9., 18., 17. und 8. aufgeführten Medikamenteninjektionen ein pathologischer Purkinje-Zellverlust eintrat. Mit Ausnahme von 18. handelt es sich ausschließlich um Kombinationen von Ampicillin bzw. Carbenicillin mit Isoxazolylpenicillinen. In Anlehnung an die auf Seite 21 durchgeführte Zusammenstellung hinsichtlich des Serumbilirubinabfalls läßt sich bei Kenntnis der histochemischen Befunde folgendes feststellen:

Ein etwa 5fach höherer PZV (90-78 %) im Vergleich zu Kontrolltieren fand sich nach Injektion folgender Medikamente: 1500 mg/kg Carbenicillin plus 500 mg/kg Oxacillin (Tab. 4: 13.), 1200 mg/kg Ampicillin plus 800 mg/kg Oxacillin (Tab. 4: 4.) und 1250 mg/kg Ampicillin plus 650 mg/kg Flucloxacillin (Tab. 4: 9).

Abb. 23 veranschaulicht den PZV (++) nach Injektion von 1500 mg/kg Carbenicillin plus 500 mg/kg Oxacillin (Resistopen,Bayer) im Vergleich zu einem Normalbefund (Abb. 22) (s. S. 33).

Vergleicht man die auf Seite 21 aufgestellte Reihenfolge steigender Bilirubinverdrängung der Medikamente mit den histochemischen Befunden, so ergeben sich deutliche Korrelationen (10): Kein Purkinje-Zellverlust nach 5000 mg/kg Ampicillin allein; Mittelstellung von 1400 mg/kg Ampicillin plus 700 mg/kg Cloxacillin; starker PZV (88 %) nach 1200 mg/kg Ampicillin plus 800 mg/kg Oxacillin.

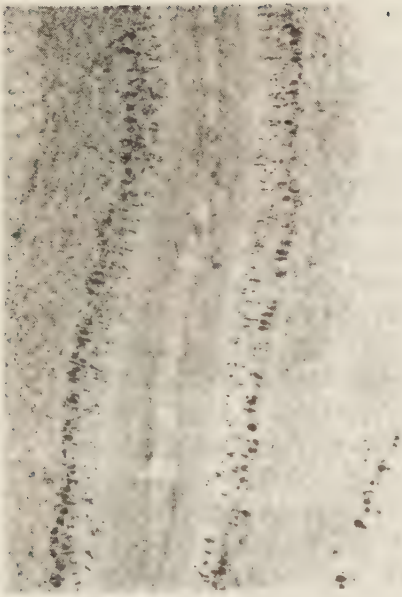


Abb. 22: Normale Purkinje-Zellzahl, 6fach vergrößert

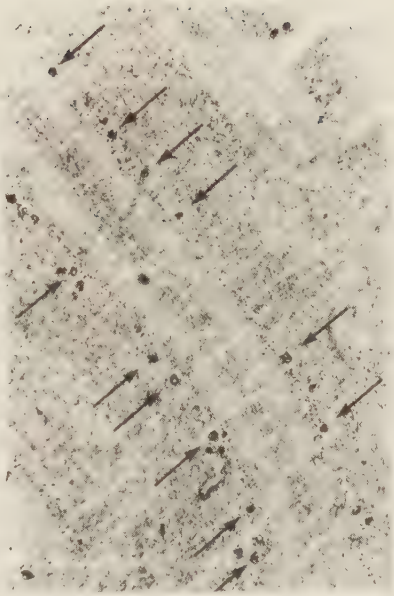


Abb. 23: Deutlicher PZV (++), C/O 1500/500, 6fach vergr., Pfeile: erhaltene Purkinje-Zellen

IV. DISKUSSION

A. Fragestellung

Beta-Lactam-Antibiotika spielen für die Prophylaxe und Therapie von Infektionen im Neugeborenenalter eine wichtige Rolle. Die Forderung, daß bei Medikamenten, die auch für Früh- und Neugeborene bestimmt sind, vor klinischer Anwendung neben metabolischen und pharmakokinetischen Daten auch das Problem bzw. das Ausmaß einer Bilirubin-Albumin-Bindungskonkurrenz bekannt sein sollte, wird allgemein anerkannt (5, 16, 24, 25, 32). Obgleich Angaben darüber in erster Linie der pharmazeutischen Industrie zukämen, finden sich auch in jüngsten Informationsschriften der Hersteller keine ausreichenden Hinweise über mögliche Verdrängungseffekte. Meistens beschränken sich die Angaben auf Dosis-Wirkungs-Relationen, Toxizitätsbestimmungen und auf die Angabe der Serumeiweißbindung. Aus diesen Gründen werden in der Arbeitsgruppe um BALLOWITZ und HANEFELD an der Kinderklinik der Freien Universität Berlin für Neugeborene relevante Medikamente in ihrem Einfluß auf die Bilirubin-Albumin-Bindung an Gunn-Ratten untersucht. Die dabei gewonnenen Ergebnisse haben beispielsweise 1975 die Firma Merck veranlaßt, die bis dahin üblichen Zusatzstoffe aus ihrem Refobacin ^{R} (10 mg-Ampullen für Säuglinge) zu eliminieren (4).

B. Tiermodell

Für vorklinische Untersuchungen neuer Medikamente stehen nur wenige in vitro- oder in vivo-Techniken zur Verfügung (35). Nach den bisherigen Erfahrungen erscheint es berechtigt, die Gunn-Ratte als in vivo-Modell herauszustellen, wenn Fragen der Beeinflussung einer nicht konjugierten Hyperbilirubinämie anstehen, wie z. B. bei der Neugeborenen-Gelbsucht oder dem Crigler-Najjar-Syndrom (10, 28, 34, 35). Unser gegenwärtiges "biologisches" Wissen basiert zu einem großen Teil auf Erkenntnissen aus Tierversuchen. Trotzdem sollte in Übereinstimmung mit STERN (26) nicht vergessen werden, daß ein Neugeborenes

nicht direkt mit einer Ratte, einem Kaninchen oder einem Affen vergleichbar ist. Obgleich niemand gern aus unglücklichen Umständen lernen möchte, war es gerade bei meiner Thematik so, daß diese den Ausgangspunkt der klinischen Forschung darstellten (22, 26). Die Aussagekraft meiner Versuchsergebnisse stützt sich u. a. auf Erfahrungen von YEARY und DAVIS (35), aus denen hervorgeht, daß bei Untersuchungen des Bilirubinverdrängungseffektes an ikterischen Gunn-Ratten brauchbare Hinweise über Dosis-Zeit-Relationen von Medikamenten zu erhalten sind und auch mögliche Einflüsse von Abbauprodukten erfaßt werden können. Ferner berichten die Autoren über gute Übereinstimmung mit der Sephadex-Gel-Filtration, mit der proteingebundenes und ungebundenes Bilirubin getrennt nachgewiesen werden können (35). Sowohl JOHNSON et al. (10, 11) als auch YEARY und DAVIS sehen es als erwiesen an, daß der schnelle Abfall der Serumbilirubinkonzentration, der bei ikterischen Gunn-Ratten nach Injektion bestimmter Medikamente zu beobachten ist, durch die Verdrängung von Bilirubin aus der Albumin-Bindung und die Aufnahme des freiwerdenden Bilirubins in andere Gewebe verursacht wird (35).

C. Literaturvergleich

Nach Durchsicht der mir vorliegenden Veröffentlichungen (S. 46-48) fand ich, daß bezüglich der Beta-Lactam-Antibiotika erstmals MALAKA-ZAFIRIU (13) mit Hilfe einer Farbstoffmethode (HBABA) (32, 35) und STERN (24) an Sephadex G 25-Säulen auf einen bilirubinverdrängenden Effekt des Oxacillins hingewiesen haben. WINDORFER (29) konnte unter Verwendung der Sephadex-Methode diese Untersuchungen bestätigen. Nach Ampicillin, Carbenicillin, Cloxacillin, Dicloxacillin und Cephalotin sah er nur nach sehr hohen Dosen, die zu klinisch kaum erreichbaren Serumkonzentrationen führten, eine gewisse, im Vergleich zu Oxacillin aber geringe Wirkung. MALAKA-ZAFIRIU fand einen Abfall der HBABA-Bindung von 11-25 % bei therapeutisch erreichbarer Oxacillin- und Cephalotin-Konzentration und bezeichnete dies als mäßigen Abfall (13). STERN (24) führte aus, daß Oxacillin verdrängend

wirkte, während er nach Methicillin und Penicillin G keinen derartigen Effekt feststellen konnte. Auch JOHNSON (11) betonte, daß Penicillin G nur in sehr hohen Dosen (1 Mill. IE/kg als i.v.-Einzeldosis) bei ikterischen Gunn-Ratten einen Abfall des Serumbilirubins verursachte. Eine Veröffentlichung von SATGE (18) (Sephadex-Methode) weist auf einen Anstieg des ungebundenen Bilirubins nach Gabe von Ampicillin/Cloxacillin (Ampiclox, Beecham) und Gentamycin in therapeutisch üblicher Dosierung hin. BRATLID (5) fand bei einer weiteren in vitro-Untersuchung (Nachweis des aus der Albumin-Bindung verdrängten Bilirubins an Erythrocyten), daß bei normalen pH-Werten Penicillin G und Ampicillin nicht verdrängend wirkten, während Cloxacillin einen deutlichen Effekt zeigte. Er wies darauf hin, daß bei seinen Untersuchungen Medikamente mit einer Eiweißbindung von 50-60 % (und mehr) Bilirubin verdrängten, während bei geringer Eiweißbindung (unter 25 %) keine derartige Wirkung erkennbar war. BALLOWITZ und HANEFELD (3) testeten unter anderem verschiedene Beta-Lactam-Antibiotika an ikterischen Gunn-Ratten. Dabei stellte sich heraus, daß Penicillin G nur einen leichten Serumbilirubinabfall zeigte, während hohe Dosen von Ampicillin und Carbenicillin einen steileren Abfall ergaben. Nach 24 Stunden war der Serumbilirubin-Ausgangswert wieder erreicht oder überschritten. Auf Grund der kurzen Halbwertzeit dieser Medikamente vermuteten BALLOWITZ und HANEFELD, daß sich trotz hoher Dosen nach 24 Stunden nicht mehr genügend Substanz im Blutkreislauf befindet, um mit dem Bilirubin zu konkurrieren. Die zuletzt angeführte Arbeit stellt die Verbindung zur vorliegenden her. Bisher lagen keine tierexperimentellen Studien über den Einfluß von Beta-Lactam-Antibiotika-Kombinationen auf die Bilirubin-Albumin-Bindung vor. Derartige Kombinationen werden häufig verordnet. Sie befinden sich seit 1971 im Handel (17).

D. Beurteilung der Ergebnisse

Aufgrund mir bekannter Veröffentlichungen war eine starke Serumbilirubinverdrängung durch Beta-Lactam-Antibiotika zunächst unwahrscheinlich. Offen war die Frage, ob sich Einflüsse von Zu-

satzstoffen (Lösungsvermittlern, Konservierungsmitteln etc.) erkennen ließen, wie dies für die eingangs erwähnte Refobacin^{R}-Zubereitung galt (4). Die Hersteller hatten auf Anfrage derartige Zusätze verneint. Ich fand keine in diese Richtung weisenden Differenzen bei Anwendung von fertigen Kombinationspräparaten bzw. Mischungen im gleichen Verhältnis, die ich selbst herstellte.

Mit Ausnahme der sogenannten 5-Tage-Versuche, bei denen Dreier-Kombinationen verwendet wurden, lagen die verabreichten Einzeldosen weit über der klinisch üblichen Dosierung. Aus diesem Grund ist mit gleich starken Einflüssen auf die Serumbilirubinkonzentration neugeborener Menschen bei klinisch üblicher Dosierung nicht zu rechnen, zumal der Serumproteingehalt, wenigstens bei reifen Neugeborenen höher ist, als bei jungen Gunn-Ratten (11) und das menschliche Albumin Bilirubin stärker bindet als das Albumin der Ratte (3). Kritische Situationen könnten sich für den menschlichen Organismus jedoch dann ergeben, wenn zu dem potentiell medikamenteninduzierten Risiko noch weitere Faktoren, wie beispielsweise eine Azidose, Hypothermie oder andere kompetitive Anionen, hinzukommen (24).

Die aus der Literatur bekannten LD 50-Angaben (3) konnten von mir in etwa bestätigt werden. Ampicillin, Carbenicillin und Penicillin G wurde von heterozygoten, also nicht ikterischen Gunn-Ratten in sehr hoher Dosis vertragen, im Gegensatz zu den Isoxazolylpenicillinen, die aber auch noch in zehnfacher klinischer Dosis toleriert wurden (Tab. 2). Bei den Kombinationspräparaten erschienen die Verhältnisse komplizierter, da sich, rein rechnerisch, keine übersichtlichen LD 50-Relationen ergaben. Es war sogar so, daß bei einzelnen Kombinationen höhere Dosen als die LD 50 der Einzelpräparate vertragen wurden: Z. B. betrug die LD 50 für Oxa- und Cloxacillin je 1000 mg/kg, in der Kombination mit Ampicillin wurden jedoch 1400 mg/kg Oxacillin bzw. 1200 mg/kg Cloxacillin von 50 % der Tiere überlebt (Tab. 2). Berücksichtigt man, daß exogene Substanzen (wie Medikamente) mit unterschiedlicher Bindungsstärke an das Protein gebunden werden (32), so erscheint bei einer hochdosierten Kom-

bination von zwei Einzelpräparaten eine Konkurrenz um die Albumin-Bindung denkbar, die dazu führt, daß bevorzugt ein Pharmakon die Bindungsstellen besetzt. Hierdurch könnte die Toxizität der weniger stark gebundenen Komponente beeinflußt werden. Falls die nicht mehr proteingebundene Medikamentenfraktion rascher renal oder biliär eliminiert wird, wäre auch eine verringerte Toxizität denkbar.

Bei der LD 50-Bestimmung spielte das Serumbilirubin keine Rolle, da hierfür heterozygote Tiere verwendet wurden. Dennoch sei im Hinblick auf toxische Wirkungen eines Pharmakons darauf hingewiesen, daß BRATLID (5) einen weiteren interessanten Aspekt aufzeigt. Er diskutierte, daß Bilirubin ebenfalls andere proteingebundene Stoffe u. a. Medikamente aus der Albumin-Bindung verdrängen kann. Bei einer Hyperbilirubinämie könnte durchaus die Situation eintreten, daß es durch eine bilirubininduzierte Verdrängung zum Ansteigen der ungebundenen Fraktion eines Medikamentes und damit zu veränderter Toxizität kommen könnte. STERN wies in der Diskussion der BRATLID'schen These (5) darauf hin, daß toxische Erscheinungsbilder während der Sepsis-Therapie bei ikterischen Kindern möglicherweise mit einer Verdrängung der Pharmaka durch das Bilirubin zusammenhängen könnten.

Der medikamentenbedingte Einfluß auf die Gewichtszunahme (innerhalb von 4 Tagen) nach hochdosierten Einzeldosen (Tab. 3) stimmt mit Angaben der Literatur (3) überein. Nahe der LD 50 ist der Gewichtsansatz in der Regel verringert. Bei einzelnen Medikamenten war trotz hoher Dosierung kein eingeschränkter Gewichtszuwachs erkennbar. Die medikamentenfreien Kontrolltiere zeigten gute Gewichtszunahmen, wobei sich in meinen Gruppen der aus der Literatur bekannte Unterschied zwischen homo- und heterozygoten Tieren (33) nicht als signifikant erwies.

Vor der Besprechung der durch Beta-Lactam-Antibiotika an homozygoten Ratten induzierten Senkung der Serumbilirubinkonzentration, soll noch einmal darauf hingewiesen werden, daß Kurven nur von solchen Versuchen gezeichnet wurden, bei denen es 30 Minuten post injectionem zu einem Abfall von mindestens 30 %

des Ausgangswertes gekommen ist. Bei allen graphisch dargestellten Versuchen kam es zwischen 30 Minuten und 3 Stunden zu keiner weiteren Bilirubinsenkung. Nach 24 Stunden waren die Ausgangswerte wieder erreicht, oft sogar deutlich überschritten.

Alle injizierten Medikamente dürften spätestens nach 24 Stunden wieder ausgeschieden sein. Die Ergebnisse von BALLOWITZ und HANEFELD (3) für die Präparate Penicillin G, Ampicillin, Carbenicillin, Flucloxacillin (7), Cefazolin und Cephalotin ließen sich in gleichen Dosis-Wirkungs-Relationen bestätigen. Bei den hochdosierten Einzelpräparaten fiel auf, daß die Isoxazolylpenicillin-Gruppe, allen voran das Flucloxacillin (Staphylex, Beecham), deutlich Bilirubin abspaltet. 500 mg/kg KG Flucloxacillin erhielten besonders viele Tiere (n = 40). Für diese Gruppe erschien die Angabe von Standardabweichungen und eine statistische Überprüfung gerechtfertigt. Folgende mittleren Serumbilirubinwerte (mit Standardabweichungen) wurden ermittelt (Abb. 13):

Vor der Injektion 8,27 mg/dl (+/- 1,49), 30 Minuten nach der Injektion 5,21 mg/dl (+/- 1,44), 3 h danach 6,80 mg/dl (+/- 1,22) und 24 h später 10,65 mg/dl (+/- 1,85). 30 Minuten nach der Injektion kam es zu einem Abfall auf fast 62 % des Ausgangswertes. Dieser Abfall erscheint im Vergleich zum 30-Minuten-Wert der Kontrolltiere (Abb. 5) signifikant ($p < 0{,}01$). Oxacillin ist aus der Literatur als bilirubinverdrängend bekannt (13, 24, 29, 30, 31, 32), nach 750 mg/kg entsprach der Abfall etwa dem von 500 mg/kg Flucloxacillin (Abb. 13). Oxacillin, Cloxacillin und Dicloxacillin verhielten sich in etwa gleichartig. Auch Cephalotin und Cefazolin bewirkten als Einzelsubstanzen eine markante Bilirubinverdrängung. Eine dosisabhängige Bilirubinabspaltung (die entsprechenden Kurven sind nicht im einzelnen graphisch dargestellt) ließ sich bei allen Medikamenten erfassen, womit erneut die Feststellung von YEARY und DAVIS (34, 35) unterstrichen wäre.
Es gelang nicht, einen eindrucksvollen Summationseffekt in Form eines besonders steilen Bilirubinabfalls bei Kombination von 2 Stoffen in hoher Einzeldosis nachzuweisen. Zieht man die Arbeiten von BALLOWITZ und Mitarbeitern (3, 4) zum Vergleich heran, so findet sich bei meinen graphischen Darstellungen kein

ähnlich steiler Serumbilirubinabfall, wie sich dies nach Refobacin^{R}- oder Sulfonamid-Injektionen ergeben hatte.

Bei den Dreier-Kombinationen, die mehrmals in klinisch üblicher Dosierung über einen Zeitraum von 5 Tagen gegeben wurden, war der Bilirubinabfall 30 Minuten post injectionem im Vergleich zu Kontrolltieren (0,9 % NaCl-Injektionen) stärker. Bei Ampicillin/Carbenicillin/Flucloxacillin, Carbenicillin/Penicillin G/Flucloxacillin und Ampicillin/Cloxacillin (Ampiclox, Beecham)/ Penicillin G kommt es 30 Minuten p.i. zur Senkung der Serumbilirubinkonzentration um 25-30 % (Abb. 17-21). Die Wirkung näherte sich der hochdosierter Einzelpräparate. Schwer interpretierbar bleibt, daß mit 2 Ausnahmen (Abb. 19/21) bei Versuchs- und Kontrolltieren der altersphysiologische Anstieg der Serumbilirubinkonzentration zwischen 1. und 5. Versuchstag ausblieb. Die Ratten hätten, legt man die Erfahrungen von JOHNSON und Mitarbeitern (10) zugrunde, während dieser Zeit einen Serumbilirubinanstieg von ungefähr 1,5 mg/dl zeigen müssen.

Um zu der Frage Stellung zu nehmen, welche Bedeutung die Eiweißbindung der einzelnen Antibiotika auf das Ausmaß der Bilirubinverdrängung hat, sind in Tab. 5 die von mir verwendeten Medikamente hinsichtlich ihrer Eiweißbindungen gruppiert.

Tab. 5: Eiweißbindung und Molekulargewicht der getesteten Beta-Lactam-Antibiotika. Nach Antibiotika-Fibel (17) und SUTHERLAND et al. (27)

Präparat	Eiweißbindung in %	Molekulargewicht	Bei 1 molarer Lsg. an Eiweiß gebundene Mole
Ampicillin	10(-20)	349.42	35 (-70)
Carbenicillin	26-53	422.4	110-224
Penicillin G	40-50	356,39	143-178
Cephalotin	50-77	396,45	198-305
Cefazolin	69-74	476,3	329-352
Oxacillin	93,1	441,45	411
Cloxacillin	94,0	475,89	447
Flucloxacillin	94,7	493,9	468
Dicloxacillin	96,9	510,34	495

In Kenntnis der prozentualen Eiweißbindung und des Molekulargewichtes lassen sich für jedes Medikament Dosen errechnen, bei denen sich die eiweißgebundenen Medikamentenfraktionen mengenmäßig gleichen. Es stellt sich die Frage, ob es nach der Injektion entsprechender Dosen zu einer etwa gleich starken Bilirubinverdrängung kommt. Wird 500 mg an Eiweiß gebundene Medikamentenfraktion als Bezugsbasis gewählt, so lassen sich aus den Angaben der Tab. 5 folgende, in etwa vergleichbare Ausgangsdosen berechnen (Ausgangsdosis = 100/Eiweißbindung in Prozent x 500 mg):

Von 3500 mg Ampicillin ist 500 mg an Eiweiß gebunden,
von 1250 mg Carbenicillin ist 500 mg an Eiweiß gebunden,
von 1100 mg (= 1,8 Mill. IE) Penicillin G ist 500 mg an Eiweiß gebunden,
von 790 mg Cephalotin ist 500 mg an Eiweiß gebunden,
von 700 mg Cefazolin ist 500 mg an Eiweiß gebunden,
von 540 mg Oxacillin ist 500 mg an Eiweiß gebunden,
von 530 mg Cloxacillin ist 500 mg an Eiweiß gebunden und
von 530 mg Flucloxacillin ist 500 mg an Eiweiß gebunden.
von 510 mg Dicloxacillin ist 500 mg an Eiweiß gebunden.

Da, wo die von mir gewählten Dosen in ähnlichen Relationen lagen, z. B. bei der Isoxazolylpenicillin-Gruppe und beim Cephalotin, ergaben sich tatsächlich annähernd vergleichbare Bilirubinabspaltungen. Bestätigen ließ sich auch, daß Medikamente mit hoher Eiweißbindung Bilirubin stärker aus seiner Albumin-Bindung verdrängen, als Pharmaka mit niedriger Eiweißbindung (Ampicillin, Carbenicillin) (5, 9).

In den histochemischen Befunden zeigte sich eine eindeutige Korrelation zwischen Serumbilirubinabfall und Purkinje-Zellverlust bei den Oxacillin-Kombinationen: Carbenicillin plus Oxacillin (Resistopen, Bayer), Ampicillin plus Oxacillin (selbst gemischt) und Carbenicillin plus Oxacillin (selbst gemischt) (Tab. 4 und Abb. 7/11). Hiermit lassen sich die Hinweise von STERN(24) und WINDORFER (29) bezüglich der Bilirubinverdrängung des Oxacillins auch von mir bestätigen. Auch Flucloxacillin verursachte in der Verbindung mit Ampicillin und Carbenicillin

einen deutlichen Purkinje-Zellverlust, der allerdings nicht mit einem, den Oxacillin-Kombinationen vergleichbar starken Abfall der Serumbilirubinkonzentration korrelierte. Das geht aus Abb. 9 hervor und aus den folgenden, nicht graphisch dargestellten mittleren Bilirubinwerten (+/- Standardabweichung) nach 2000 mg/kg Carbenicillin plus 200 mg/kg Flucloxacillin (n = 12): 0-Wert 9.22 mg/dl (+/- 0,99), 30 Minuten p.i. 6,28 mg/dl (+/- 0,81), 3 Stunden p.i. 6,81 mg/dl (+/- 1,64) und 24 Stunden p.i. 9,80 mg/dl (+/- 1,57).

Leider lagen zu den Cephalosporin-Präparaten keine histochemischen Untersuchungsergebnisse vor. Bei der signifikanten Bilirubinabspaltung nach Cephalotin- und Cefazolin-Injektionen (Abb. 15/16) dürfte ein starker Purkinje-Zellverlust zu erwarten sein.

V. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit ging es um die Frage, ob Beta-Lactam-Antibiotika bei 3-5 Tage alten homozygoten, ikterischen Gunn-Ratten die Bilirubin-Albumin-Bindung beeinflussen. Die Untersuchungen schließen an die von BALLOWITZ und HANEFELD 1976 publizierten Beobachtungen an und ergänzen diese durch die erstmals aufgegriffene Frage, ob Kombinationen von Beta-Lactam-Antibiotika einen Summationseffekt hinsichtlich der Bilirubinverdrängung zeigen.

Die Antibiotika wurden als hochdosierte Monosubstanzen, als etwas weniger hochdosierte Zweier-Kombinationen und als Dreier-Kombinationen in klinisch üblicher Dosierung getestet. Die hohen Einzeldosen betrugen etwa 50 % der an heterozygoten, nicht ikterischen Gunn-Ratten ermittelten LD 50 eines jeden Präparates und lagen damit weit über klinisch verwendeten Dosen. Nach den Medikamenten-Injektionen wurden Gewichtszunahme und Überlebensrate,sowie die Serumbilirubinkonzentration und das Ausmaß der Purkinje-Zellverluste als Parameter des Kernikterus (Bilirubinencephalopathie) untersucht.

Nach hohen Einzeldosen zeigte sich bei einigen Präparaten (z. B. nach Injektion von Carbenicillin, Oxacillin, Flucloxacillin, Cephalotin und Cefazolin) eine deutliche Bilirubinverdrängung 30 Minuten post injectionem. Sie betrug 30-50 % des Ausgangswertes und hielt zum Teil 3 Stunden und länger an. Nach 24 Stunden war aber bei allen Versuchen die Ausgangskonzentration wieder erreicht, ja in der Regel, dem altersphysiologischen Anstieg entsprechend, überschritten. In Übereinstimmung mit der Literatur wurde ein rascher Abfall des Serumbilirubins 30 Minuten nach Injektion als besonders aussagekräftig für eine medikamenteninduzierte Bilirubinverdrängung angesehen. Auch aus meinen Ergebnissen läßt sich der BRATLIDschen These entsprechend, ablesen, daß in der Regel Medikamente, die eine hohe Eiweißbindung besitzen (wie die Isoxazolylpenicilline), in besonderem Maße in die Bilirubin-Albumin-Bindung eingreifen.

Unter den Kombinationspräparaten fiel Carbenicillin plus Oxa-

cillin bei 5fach höherer Dosierung als klinisch üblich am stärksten auf. 30 Minuten post injectionem kam es zu einem Bilirubinabfall von über 40 % und histochemisch konnte ein erheblicher Purkinje-Zellverlust am Kleinhirn der Ratten nachgewiesen werden. Es erscheint angezeigt, mit der Verwendung dieser Kombination bei Neugeborenen mit Hyperbilirubinämie zurückhaltend zu sein.

Aus früheren Publikationen war bekannt, daß Oxacillin allein die Bilirubin-Albumin-Bindung deutlich beeinflußt. Diese Wirkung hat nach meinen Ergebnissen die gesamte Isoxazolylpenicillin-Gruppe (vielleicht mit Ausnahme von Cloxacillin). Flucloxacillin bewirkte in der hohen Einzeldosis von 500 bzw. 1000 mg/kg KG einen Bilirubinabfall von 40-45 %. Ein sicherer Purkinje-Zellverlust war bei den 7 mit 500 mg/kg KG behandelten Tieren nicht erkennbar. HANEFELD und BALLOWITZ (7) haben allerdings einen erheblichen Purkinje-Zellverlust nach mehrmaliger Injektion von 500-1000 mg/kg KG Flucloxacillin beobachtet. Der Ganglienzellschaden wurde in meinen Versuchen erst bei der Kombination mit Ampicillin, Carbenicillin und Penicillin G deutlich. Nach 500 mg/kg KG Dicloxacillin fiel die Serumbilirubin-Kurve etwas weniger stark ab. Trotzdem zeigte sich bereits nach einer Injektion des Monopräparats und dann auch in Verbindung mit Ampicillin, Carbenicillin und Penicillin G ein deutlicher Purkinje-Zellverlust.

Nach der Anwendung von Dreier-Kombinationen in klinisch üblichen Dosen kam es ebenfalls zu einer Beeinflussung der Serumbilirubinkonzentration. Sie war weniger ausgeprägt als nach der Injektion hochdosierter Monopräparate oder Zweier-Kombinationen, unterschied sich aber deutlich vom Einfluß der physiologischen NaCl-Lösung, die den Kontrolltieren injiziert wurde. Nach 5maliger Verabreichung von Dreier-Kombinationen, die Flucloxacillin (50 mg/kg) enthielten, zeigte sich ein verstärkter Purkinje-Zellverlust am Kleinhirn der Ratten.

Eine markante Summationswirkung in der Bilirubinverdrängung durch Kombination von Beta-Lactam-Antibiotika ließ sich nicht

feststellen. Ein ähnlich steiler Abfall der Serumbilirubinkonzentration war sowohl nach hochdosierter Injektion von Monosubstanzen, als auch nach Zweier-Kombinationen erkennbar, die im einzelnen geringer, in der Summe hingegen den Monopräparaten vergleichbar, dosiert wurden. Es wäre denkbar, daß infolge begrenzter Bindungsfähigkeit des Ratten-Serumalbumins beim Angebot von zwei konkurrierenden Präparaten nur (bzw. bevorzugt) Platz für einen Reaktionspartner vorhanden ist und daß infolge substratspezifischer Bindungskräfte dem anderen Kombinationspartner keine Einflußmöglichkeit auf die Bilirubin-Albumin-Bindung bleibt.

Auch in meinen Untersuchungen ergab sich, zwar nicht in jedem einzelnen Falle, eine Korrelation zwischen Serumbilirubinabfall und Purkinje-Zellverlust. Am deutlichsten stellte sich dies bei den Versuchsreihen mit Oxacillin-Verbindungen dar.

Eine wesentliche Schwierigkeit der Arbeit bestand darin, aus der Fülle der Medikamente und den Kombinationsmöglichkeiten erst diejenigen herauszufinden, die auswertbare Dosis-Wirkungs-Relationen für die daran anschließenden Hauptversuche ergaben. Hierdurch erklärt sich die beträchtliche Anzahl von 1410 Versuchstieren.

Da eine als kritisch anzusehende Verdrängung von Bilirubin aus der Albumin-Bindung nur nach Injektionen recht hoher Dosen auftrat, sind die Ergebnisse für die Praxis nur zum Teil relevant. Man wird sie in Rechnung stellen müssen, wenn bei starker Hyperbilirubinämie zu relativ hohen Medikamentendosen Faktoren treten, die ebenfalls Einfluß auf die Bilirubin-Albumin-Bindung nehmen, wie niedriges Gesamteiweiß bzw. Serumalbumin, gleichzeitiges Bestehen von Azidose und Hypothermie, sowie Anwesenheit von anderen kompetitiven Anionen.

VI. LITERATURANGABEN

1. BALLOWITZ, L.: Effects of Blue and White Light on Infant (Gunn) Rats and on Lactating Mother Rats. Biol. Neonate 19: 409-425, 1971

2. BALLOWITZ, L.: Hyerpbilirubinämie bei Neu- und Frühgeborenen. pädiat. prax. 13: 213-230, 1973/74

3. BALLOWITZ, L. und HANEFELD, F.: Effects of Drugs on Infant Gunn Rats under Phototherapy. Birth Defects: Orig. Art. Ser. 12: 61-80, 1976

4. BALLOWITZ, L., HANEFELD, F., SCHMID, H.: The influence of various aminoglycosid preparations on bilirubin-albumin binding. J. Perinat. Med. 4: 168-183, 1976

5. BRATLID, D.: Pharmacologic Aspects of Neonatal Hyperbilirubinemia. Birth Defects: Orig. Art. Ser. 12: 184-191, 1976

6. HANEFELD, F. and NATZSCHKA, J.: Histochemical Studies in Infant Gunn Rats with Kernicterus. Neuropäd. 4, 428-438, 1971

7. HANEFELD, F., BALLOWITZ, L.: Flucloxacillin and bilirubin binding. Lancet, Feb. 21: 433-434, 1976

8. HAUSCHILD, F.: Pharmakologie und Grundlage der Toxikologie, VEB Georg Thieme, Leipzig: 37-39, 1973

9. HOFFMANN: Bindung von Fremdstoffen an die Blutplasmaproteine. Entwicklungspharmakologie, Fischer Verlag, Stuttgart: 43-49, 1974

10. JOHNSON, L. et al.: Kernicterus in Rats with an Inherited Deficiency of Glucuronyl Transferase. Am. J. Dis. Childr. 97: 591-608, 1959

11. JOHNSON, L. et al.: Kernicterus in Rats Lacking Glucuronyl Transferase. Am. J. Dis. Childr. 101: 322-349, 1961

12. KUSCHINSKY, G.: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie, Georg Thieme, Verlag Stuttgart: 280-282, 1972

13. MALAKA-ZAFIRIU, K. and STRATES, B. S.: The Effect of Antimicrobial Agents on the Binding of Bilirubin by Albumin. Acta Paed. Scand. 58: 281-286, 1969

14. NATZSCHKA, J. C. and ODELL, G. B.: The Influence of Albumin on the Distribution and Excretion of Bilirubin in Jaundiced Rats. Ped. 37: 51-61, 1966

15. ODELL, G. B.: The Dissociation of Bilirubin from Albumin and its Clinical Implications. J. Ped. 55: 268-279, 1959

16. ODELL, G. B. et al.: The Displacement of Bilirubin from Albumin. Birth Defects: Orig. Art. Ser. 12: 192-204, 1976

17. OTTEN, H., PLEMPEL, M., SIEGENTHALER, W.: Antibiotika-Fibel, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart: 170-256, 267-268, 280-295, 304-308; 1975

18. SATGE, P. et al.: The Place of Free Bilirubin Estimations. Arch. Franc. Ped. 31: 201-213, 1974

19. SCHIFF, D., CHAN, G., STERN, L.: Fixed Drug Combinations an the Displacement of Bilirubin from Albumin. Ped. 48: 139-140, 1971

20. SCHMID, R.: Bilirubin Metabolism in the Newborn. Birth Defects: Orig. Art. Ser. 6: 7-8, 1970

21. SILBERBERG, D. H. et al.: Factors influencing toxicity of bilirubin in cerebellum tissue culture. J. Ped. 77: 386-396, 1970

22. SILVERMAN, W. A. et al.: A Difference in Mortality Rate and Incidence of Kernicterus among Premature Infants Alloted to two Prophylactic Antibacterial Regimens. Ped. 18: 614-623, 1956

23. SLAMA, B.: Studien über den Kernikterus junger Gunn-Ratten: Einwirkungen verschiedener Medikamente während der Fototherapie. Inaug. Diss. FU Berlin, 1976

24. STERN, L.: Drug Interactions-Part II: Drugs, the Newborn Infant, and the Binding of Bilirubin to Albumin. Ped. 49: 916-918, 1972

25. STERN, L. et al.: Bilirubin Metabolism and the Induction of Kernicterus. Birth Defects: Orig. Art. Ser. 12: 255-263, 1976

26. STERN, L.: Bilirubin Binding. Birth Defects: Orig. Art. Ser. 12: 321-324, 1976

27. SUTHERLAND, R. et al.: Flucloxacillin, ein neues Isoxazolyl-Penicillin - Vergleich mit Oxacillin, Cloxacillin und Dicloxacillin. Sonderdruck der Beecham Research Laboratories aus: British Med. J. 4: 455-460, 1970

28. THALER, M. and SCHMID, R.: Drugs and Bilirubin. Ped. 47: 807-810, 1971

29. WINDORFER, A. und MIHAILOVA, K.: Der Einfluß verschiedener Medikamente und pH-Werte auf die Albumin-Bilirubin-Bindung in vitro. Z. Kinderheilk. 114: 83-92, 1973

30. WINDORFER, A.: Untersuchungen über die Steigerung der Albumin-Bilirubin-Dissoziation durch Medikamente in vitro und in vivo. Mschr. Kinderheilk. 121, 469-470, 1973

31. WINDORFER, A. et al.: Besteht erhöhte Gefahr einer Bilirubinenzephalopathie im Neugeborenenalter durch eine medikamentöse Therapie?, Dtsch. med. Wschr. 98: 1260-1267, 1973

32. WINDORFER, A. und KARITZKY, D.: Über die Bedeutung der Albumin-Bilirubin-Bindung bei der medikamentösen Therapie im Neugeborenenalter. Mschr. Kinderheilk. 123: 27-30, 1975

33. WIRJADI, D.: Der Einfluß von Riboflavin auf den Effekt der Fototherapie bei jungen Gunn Ratten.
Inaug. Diss. FU Berlin in Vorbereitung

34. YEARY, R. A.: Comparative toxicity studies on glucuronide-compounds in icteric and nonicteric Gunn rats.
J. Pediat. 77: 139-142, 1970

35. YEARY, R. A. and DAVIS, D. R.: Protein Binding of Bilirubin: Comparison of in Vitro and in Vivo Measurements of Bilirubin Displacement by Drugs.
Tox. Appl. Pharmac. 28: 269-283, 1974

Besonderen Dank:

Frau Professor L. BALLOWITZ, für die Überlassung des Themas, für ihre hilfreiche Unterstützung und die kritische Durchsicht.

Herrn Professor F. HANEFELD für die Auswertung der histochemischen Befunde.

Den Damen R. LUDWIG und A. KRETSCHMER, die wesentlich zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

L E B E N S L A U F

Ich, Wolfgang Friedrich Heß, wurde am 29. Dezember 1949 als Sohn des Ehepaares Karl und Elisabeth Heß in Neuwied am Rhein geboren.

Im Jahre 1968 erwarb ich in Schwenningen am Neckar die Hochschulreife und studierte von 1968 bis 1975 in Tübingen und Berlin Humanmedizin.

Im August 1975 legte ich an der Freien Universität Berlin das Staatsexamen ab und arbeitete im Anschluß als Medizinalassistent an der Kinderklinik der Freien Universität Berlin, am Jüdischen Krankenhaus Berlin-Wedding und am Krankenhaus Am Urban Berlin-Kreuzberg.

Im Januar 1977 erhielt ich die Approbation. Ich arbeite seitdem als Assistenzarzt am Christophorus-Kinderkrankenhaus in Berlin-Lichtenrade.

DISSERTATIONSDRUCK WALTER MONATH
Wichurastr. 58c Tel. 030/77547 76/77 1 Berlin 46